

© БУЯНОВА С.В., 2012

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АТОРВАСТАТИНА И ЕГО ДЕРИВАТОВ В СОСТАВЕ ЛИПОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ЗДОРОВЫХ ВОЛОНТЕРОВ И БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ЛЮДЕЙ

БУЯНОВА С.В.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра общей и клинической биохимии*

**Резюме.** Сравнивали распределение аторвастатина и его биологически активных дериватов в липопротеиновых комплексах крови здоровых людей первого периода зрелого возраста и людей больных ИБС второго периода зрелого возраста. У больных ИБС отмечается более высокое содержание аторвастатина и его дериватов в составе липопротеиновых комплексов, исключая содержание аторвастатина ЛПОНП и ЛПВП, отличий в содержании которого не выявлено и орто-гидроксиаторвастатина, который превалирует в составе ЛПОНП молодых людей. Дисперсионный анализ выявил высокую степень влияния возраста и ИБС на распределение аторвастатина и его дериватов в липопротеиновых комплексах крови.

**Ключевые слова:** аторвастатин, пара-гидроксиаторвастатин, орто-гидроксиаторвастатин, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, ИБС.

**Abstract.** Atorvastatin and its biologically active derivatives distribution in blood lipoprotein complexes of the first period of mature age healthy people and the second period of mature age patients with coronary heart disease was compared. Higher content of atorvastatin and its derivatives in lipoprotein complexes in patients with coronary heart disease was noted, except for the content of VLDL and HDL atorvastatin, differences in the content of which were not revealed and that of orthohydroxyatorvastatin which prevails in the structure of VLDL in young men. Dispersion analysis revealed high degree of age and coronary heart disease influence on atorvastatin and its derivatives distribution in blood lipoprotein complexes.

Липопротеиновые комплексы (ЛПК) являются уникальной транспортной системой крови, связывающей и переносимой гидрофобные соединения, такие, как жирорастворимые витамины, стероидные (кортизол, кортикостерон, прегненолон, дезок-

сикортикостерон) [1] и тироидные гормоны [1], ксенобиотики (бензпирен, бензантрацен, бензилпенициллин, цитохалазин) [2]. ЛПК способны транспортировать и липофильные статины [3] - лекарственные средства, снижающие уровень холестерина (ХС) в крови посредством ингибирования  $\beta$ -окси- $\beta$ -метил-глутарил-КоА-редуктазы (КФ 1.1.1.34) в печени. В настоящее время статины широко применяются в кардиологической практике для коррекции дислипотеинемий различного генеза. Наиболее распространенным препаратом этой

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра общей и клинической биохимии, Тел. раб.: 8 (0212) 37-24-52, e-mail: bu\_lana@mail.ru – Буянова С.В.

группы является дериват пиролл-гептановой кислоты аторвастатин (ATV) [5], обладающий выраженной липофильностью, что определяет его способность к транспорту в составе ЛПК, проникновению через цитоплазматические мембраны [6] и возможность действия на метаболизм ХС, в том числе в периферических клетках. В то же время, согласно исследованиям с применением  $^{14}\text{C}(\text{}^3\text{H})$ -ацетил-КоА у крыс от 60% до 80% холестерина (ХС) образуется в печени, у человека эта величина составляет менее 50% [7], что позволяет расценивать периферические ткани человека как один из важнейших источников эндогенного ХС. Несмотря на широкое применение ATV в клинической практике, в научной литературе отсутствует информация о каскаде метаболических событий, вызванных вмешательством в продукцию ХС в периферических тканях. Исследование закономерностей распределения статинов в ЛПК позволит рассмотреть специфику их транспорта к периферическим тканям, что даст возможность прогнозировать влияние статинов на синтез ХС в этих тканях.

Учитывая высокую значимость ХС для построения мембран и модуляции их физико-химических свойств, а также его использование для продукции ряда гормонов и биорегуляторов, исследование доставки статинов периферические ткани представляется актуальным и необходимым.

Ранее нами было описано распределение аторвастатина в ЛПК здоровых волонтеров [3] и проведены исследования по распределению ATV и его дериватов у больных ИБС, материалы которого направлены для публикации в рецензируемый журнал Республики Беларусь.

Целью данной работы было сравнить распределение аторвастатина в ЛПК здоровых волонтеров и больных ИБС людей.

### Методы

Для достижения поставленной цели были обследованы 16 (8 мужчин и 8 женщин) здоровых добровольцев и 29 (14 мужчин и 15 женщин) больных ИБС, принимавших аторвастатин перорально однократно утром за 4

часа до завтрака в разовой дозе 80 мг. Аторвастатин предоставлен для работы фармацевтическим предприятием СООО «ЛЕКФАРМ» (Республика Беларусь).

Учитывая, что максимальная концентрация ATV в крови определяется через 2–2,5 часа после приема препарата [8], кровь для исследований забирали из локтевой вены в гепаринизированные пробирки до приема и через 2 часа после приема препарата. Плазму крови получали центрифугированием в рефрижераторной центрифуге РС-6 при 3000 оборотах в минуту, расфасовывали в пластиковые пробирки и до обработки хранили в жидком азоте. Липопротеины высокой плотности (ЛПВП), низкой плотности (ЛПНП) и очень низкой плотности (ЛПОНП) выделяли методом ультрацентрифугирования [9]. Содержание ATV и его активных метаболитов парегидроксиаторвастатина (p-ОН) и орто-гидроксиаторвастатина (o-ОН) в ЛПК определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Идентификацию проводили по времени удерживания стандартных образцов.

Для анализа распределения ATV и его дериватов по фракциям ЛПК у здоровых волонтеров статистическую обработку данных проводили с применением непараметрических методов статистического анализа с использованием критерия Манна-Уитни, учитывая неправильное распределение исследуемых признаков; у больных ИБС - с использованием критерия Краскела-Уоллиса, т.к. проводилось сравнение трех независимых групп по одному признаку.

Анализ содержания ATV и его активных дериватов в ЛПК больных ИБС мужчин и женщин не выявил достоверных отличий, что позволило провести объединение этих групп для дальнейшего анализа. Объединенную группу мы использовали для последующего сопоставления с группами мужчин и женщин здоровых волонтеров, поскольку у них сравнение распределения ATV и его дериватов в ЛПК выявило достоверные половые отличия.

Для сравнения распределения ATV и его дериватов по фракциям ЛПК у здоровых волонтеров и больных ИБС данные содержания статинов брались с учетом фоновых значений

(использовались абсолютные значения). Учитывая неправильное распределение исследуемых признаков, статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Манна-Уитни. Сравнение исследуемых показателей у молодых людей и в группе больных ИБС в зависимости от пола с использованием критерия Мана-Уитни не выявил достоверных отличий, что позволило объединить обследуемых в группы вне зависимости от пола.

### Результаты и обсуждение

Сравнение сумм ATV и его дериватов, распределенных в составе ЛПК, показало, что наиболее значимым по содержанию дериватом как у молодых людей, так и в группе больных ИБС был р-ОН ( $p=0,004$ ,  $0,0009$  и  $p<0,000001$ ,  $p=0,0006$ , соответственно, таблица 1). Вероятно, как у молодых людей, так и у лиц второго периода зрелого возраста больных ИБС наиболее активно в ходе микросомальной трансформации образуется р-ОН. Возможно, элиминация ATV и образовавшихся в ходе его трансформации дериватов происходит более активно у молодых людей, что и определило достоверно более высокое содержание р-ОН и ATV у больных ИБС. В то

же время количество о-ОН у молодых людей и больных ИБС не имело достоверных отличий.

Таким образом, полученные результаты могут свидетельствовать о более высокой активности клиренса ATV и р-ОН у молодых людей. Более длительная циркуляция этих соединений в крови больных ИБС может способствовать более выраженному, чем у молодых людей, действию на продукцию ХС в периферических клетках.

Исследование распределения ATV и его дериватов по ЛПК продемонстрировало схожие закономерности у молодых людей и людей, больных ИБС, однако, как и в случае с суммарным количеством ATV и его продуктов, у больных ИБС их содержание было более высоким, чем у здоровых волонтеров (рис. 1).

Сравнение содержания ATV и его биологически активных дериватов в составе ЛПВП показало, что у больных ИБС количество р-ОН и о-ОН было достоверно выше, чем в группе молодых волонтеров ( $p=0,0005$  и  $0,002$ , соответственно), при этом содержание самого ATV не отличалось от такового у здоровых молодых людей (табл. 1).

Для уточнения степени влияния возраста и ИБС на распределение ATV и его дериватов в составе ЛПК был проведен диспер-

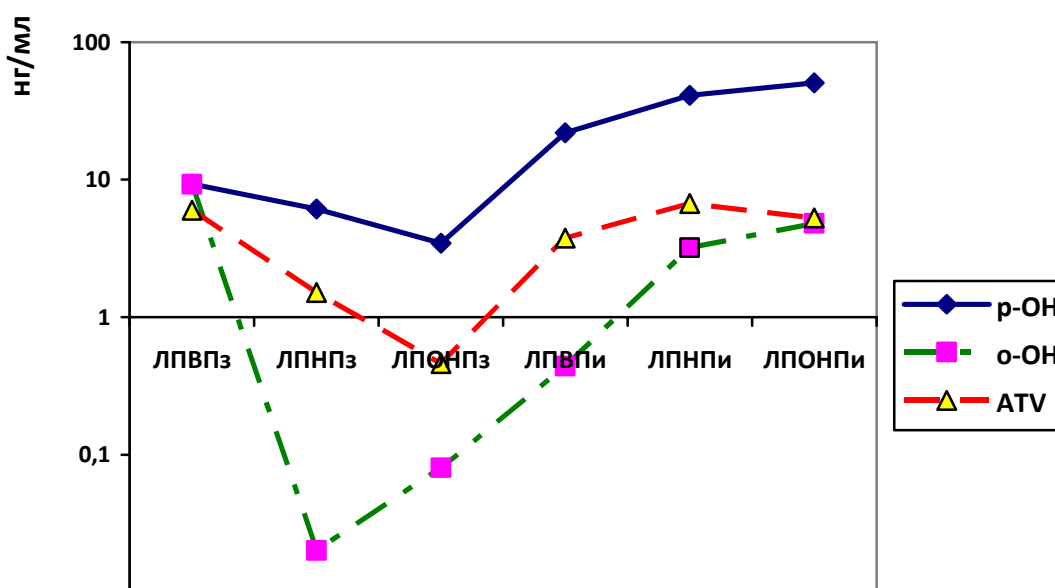


Рис. 1. Распределение аторвастатина и его дериватов по основным классам липопротеиновых комплексов здоровых (ЛПК<sub>з</sub>) и больных ИБС (ЛПК<sub>и</sub>) людей.

Таблица 1

**Распределение аторвастатина и его дериватов по основным классам липопротеиновых комплексов у здоровых волонтеров и больных ИБС людей**

	р-ОН, нг/мл	о-ОН, нг/мл	ATV, нг/мл
Сумма ATV и его дериватов в ЛПК			
Здоровые	18,31±10,8	8,75±12,7	7,59±6,36
P <sub>o</sub>	0,004		
P <sub>A</sub>	0,0009		
P	<0,000001		0,023
ИБС	100,02±36,4	7,31±17,3	87,15±106,9
P <sub>o</sub>	<0,000001		0,0006
ЛПВП			
Здоровые	9,31±10,9	9,24±13,4	6,0±4,9
P	0,0005	0,002	
ИБС	22,04 ± 18,16	0,44 ± 1,15	3,76 ± 4,78
ЛПОНП			
Здоровые	3,46±2,5	0,08±0,03	0,46±0,92
P	<0,000001	0,046	
ИБС	50,76 ± 28,2	4,76 ± 16,67	5,26 ± 12,81
ЛПНП			
Здоровые	6,13±3,54	0,02±0,075	1,51±3,11
P	<0,000001	0,013	0,016
ИБС	41,06 ± 23,38	3,17 ± 4,95	6,71± 7,24

Примечания: P<sub>o</sub> – по сравнению с о-ОН, P<sub>A</sub> – по сравнению с ATV, P – по сравнению со здоровыми.

сионный анализ (табл. 2). Влияние возраста и ИБС на количество р-ОН в ЛПВП было очень значительным и составило 45,1%. Влияние указанных факторов на распределение ATV и о-ОН не было выявлено. Вероятно, столь значительное влияние возраста и ИБС обусловлено описанными в литературе возрастными изменениями состава и активности ЛПВП [10].

Учитывая, что у здоровых людей ЛПВП осуществляет транспорт ХС от периферических клеток к печени и практически не захватываются периферическими клетками [11], полученные данные, вероятно, можно расценить как свидетельствующие о возможности более высокой активности элиминации р-ОН у больных ИБС. В то же время, возрастные изменения состава и функциональной активности ЛПВП [10] могут способствовать замедлению элиминации р-ОН и, как следствие, росту его содержания в составе этого класса ЛПК. Для точного выяснения причины такой значимой перестройки связывания р-ОН тре-

буются дальнейшие исследования. Однако следует подчеркнуть еще одну важную деталь: известно, что ЛПВП в острый период воспаления способны поставлять ХС периферическим клеткам [12], такое распределение требует особого контроля у лиц больных ИБС в сочетании с острыми воспалительными процессами.

Сравнение распределения ATV и его дериватов в составе ЛПОНП показало, что содержание р-ОН и о-ОН было достоверно ( $p < 0,000001$ ,  $p = 0,046$ ) выше в ЛПОНП больных ИБС (табл. 1). Степень влияния возраста и ИБС на этот показатель составила 20,8 и 9,6% соответственно (табл. 2). Учитывая, что ЛПОНП не захватывается периферическими тканями, а подвергается лишь внутрисосудистой липолитической трансформации, можно предположить, что воздействие на продукцию ХС в периферических тканях связанных ATV и его дериватами, вероятно, будет минимальным.

Таблица 2

**Некоторые показатели дисперсионного анализа влияния ИБС и возраста на распределение ATV и его дериватов в ЛПК крови**

	SS	Degr. of	MS	F	p	% действия
p-ОН ЛПВП	42402,16	1	42402,16	35,41127	0,000000	45,1%
Ошибка	51489,06	43	1197,42			
p-ОН ЛПОНП	5300,17	1	5300,172	11,03113	0,001862	20,8%
Ошибка	20179,92	42	480,474			
o-ОН ЛПОНП	371,411	1	371,4115	4,485357	0,040147	9,6%
Ошибка	3477,824	42	82,8053			
p-ОН ЛПНП	15786,13	1	15786,13	18,13416	0,000141	33,5%
Ошибка	31338,68	36	870,52			
o-ОН ЛПНП	119,0487	1	119,0487	7,350585	0,010209	16,9%
Ошибка	583,0494	36	16,1958			
ATV ЛПНП	368,686	1	368,6861	7,346381	0,010229	16,8%
Ошибка	1806,699	36	50,1861			

Примечания: SS – сумма квадратов показателя, Degr. of – число степеней свободы показателя, MS – средний квадрат показателя, F-критерий (Критерий Фишера), p - вероятность нулевой гипотезы.

Исследование распределения ATV и его дериватов в составе ЛПНП продемонстрировало, что содержание всех исследуемых соединений было достоверно более высоким у больных ИБС ( $p < 0,000001$ ,  $p = 0,013$  и  $0,016$ , соответственно) (табл. 1). Степень влияния возраста и ИБС на исследуемые показатели составила 33,5% для p-ОН, 16,9% для o-ОН и 16,8% для ATV (табл. 2). Поскольку ЛПНП осуществляют транспорт ХС к периферическим клеткам и захватываются apoB100/E рецепторами с последующей интернализацией и полной внутриклеточной деградацией [13], можно предположить, что транспортируемые в их составе ATV и его дериваты способны оказать существенное влияние на биосинтез ХС в этих клетках.

Подводя итог, можно предположить, что наиболее высокой активностью воздействия на синтез холестерина в периферических тканях могут оказать ATV и его дериваты, транспортирующиеся в составе ЛПНП.

### Заключение

Таким образом, впервые проведенные исследования особенностей транспорта аторвастатина и его биологически активных дериватов в составе липопротеиновых комплексов акцентируют внимание на возможных неоднозначных эффектах статинов и аргументируют необходимость разработки индивидуальных подходов к использованию их для коррекции дислиппротеинемий.

В результате проделанной работы можно сделать выводы:

1. Распределение ATV и его дериватов по ЛПК молодых и больных ИБС людей при анализе с использованием критерия Ман-Уитни не имеет половых различий и носит однотипный характер.

2. Количественно, у людей больных ИБС содержание ATV и его метаболически активных дериватов в составе ЛПК выше, чем у

молодых волонтеров, исключая ATV в составе ЛПОНП и ЛПВП (не имели отличий), а также О-ОН в составе ЛПОНП (у молодых людей содержание было более высоким).

3. Наиболее значимым по количеству дериватом ATV, транспортирующимся в составе ЛПК как молодых людей так и лиц второго периода зрелого возраста больных ИБС, является р-ОН.

4. Возраст и ИБС оказывают наиболее значимое влияние на распределение р-ОН в ЛПВП (45,1%) и ЛПНП (33,5%). Влияние на распределение р-ОН в составе ЛПОНП составило 20,8%, о-ОН в ЛПОНП – 9,6%, в ЛПНП – 16,9%, ATV ЛПНП – 16,8%.

5. Выявленные факты позволяют предположить наличие различий в действии ATV и его активных дериватов на продукцию ХС в периферических клетках молодых людей и лиц больных ИБС.

### Литература

1. Панин, Л.Е. Транспорт стероидных гормонов липопротеинами сыворотки крови / Л.Е. Панин, Л.М. Поляков, А.А. Розуменко, Н.Г. Биушкина // *Вопр. мед. химии*. - 1988. - Т. 34, № 5. - С. 56-58.
2. Sviridov, O.V. A new property of known proteins: specific binding of thyroid hormones by human plasma apolipoproteins // *Biokhimiia*. - 1994. - Vol. 59. - № 5. - P. 625-638.
3. Панин, Л.Е. Характеристика связывания и транспорт бензо[α]пирена с липопротеидами сыворотки крови. / Л.Е. Панин, М.И. Часовских, Л.М. Поляков // *Бюл. экспер. биол. мед.* - 1991. - Т. 111. - С. 31-33.
4. Буянова, С.В. Состав липопротеинов крови доноров через 2 часа после однократного приема аторвастатина / С.С. Буянова, С.С. Осочук, Г.Д. Коробов // *Клиническая лабораторная диагностика*. - 2011. - №8. - С. 18-21.
5. Ялымов, А.А. Влияние аторвастатина на показатели липидного обмена, микроциркуляции и суточного мониторирования ЭКГ у больных острым коронарным синдромом / А.А. Ялымов, Г.Г. Шехян, В.С. Задонченко // *От диспансеризации к высоким технологиям: материалы конгресса кардиологов*. - 2006. - С. 449.
6. Fonarow, G. Effective strategies for long-term statin use / G. Fonarow, K. Watson // *Am J. Cardiol.* - 2002. - Vol. 92, - № 1A. - P. 27-34.
7. Dietschy, J.M. The role of the liver in lipid lipoprotein metabolism / J.M. Dietschy, S.D. Turley, D.K. Sprady // *Liver in Metabolic Diseases. Falk symposium 35* - 1983. - P. 17-39.
8. Буянова, С.В. Особенности распределения аторвастатина и его активных дериватов в липопротеиновых комплексах крови / С.В. Буянова, С.С. Осочук // *Материалы 65 научной сессии сотрудников Витебского медицинского университета*. - Витебск 2010. - С. 464-467.
9. Lindgren, F.T. Analysis of low density lipoproteins by preparative ultracentrifugation and refractometry / F.T. Lindgren, A. Nicholos, N. Freedman, et. al. // *Journal of lipid research*. - 1964. - Vol. 5, - P. 68-74.
10. Berrougui, H. Age-associated decrease of high-density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport activity. / H. Berrougui, A. Khalil // *Rejuvenation Res.* - 2009. - Vol. 12, - №2. - P. 117-126.
11. Климов, А.Н. Липиды, липопротеиды и атеросклероз / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева – СПб: Питер Пресс, 1995. – 304 с.
12. Imachi, H. Evidence for a potential role for HDL as an important source of cholesterol in human adrenocortical tumors via the CLA-1 pathway / H. Imachi, K. Murao, Y. Sayo, et. al. // *Endocr J.* - 1999. - Vol. 46, - №1. - P. 27-34.
13. Humphries, W.H. Intracellular degradation of low-density lipoprotein probed with two-color fluorescence microscopy / W.H. Humphries, N.C Fay., C.K. Payne // *Integr Biol (Camb)*. - 2010. - Vol. 2, - №10. - 536-544.

Поступила 01.02.2012 г.

Принята в печать 02.03.2012 г.